



Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

**Fakulteten för veterinärmedicin
och husdjursvetenskap**
Institutionen för biomedicin och veterinär
folkhälsvetenskap

***MDR1*-mutationen hos hundar**

Johanna Olsson

*Uppsala
2015*

Kandidatarbete 15 hp inom veterinärprogrammet

Kandidatarbete 2015:27

***MDR1*-mutationen hos hundar**

The *MDR1*-mutation in dogs

Johanna Olsson

Handledare: *Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Examinator: *Eva Tydén, institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap*

Kandidatarbete i veterinärmedicin

Omfattning: 15 hp

Nivå och fördjupning: grundnivå, G2E

Kurskod: EX0700

Utgivningsort: Uppsala

Utgivningsår: 2015

Serienamn: Veterinärprogrammet, examensarbete för kandidatexamen / Sveriges lantbruksuniversitet,
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

Delnummer i serie: 2015:27

Elektronisk publicering: <http://stud.epsilon.slu.se>

Nyckelord: *P-glykoprotein, MDR1, mutation, hund, makrocycliska laktoner*

Key words: *P-glycoprotein, MDR1, mutation, dog, macrocyclic lactones*

Sveriges lantbruksuniversitet
Swedish University of Agricultural Sciences

Fakulteten för veterinärmedicin och husdjursvetenskap
Institutionen för biomedicin och veterinär folkhälsovetenskap

INNEHÅLLSFÖRTECKNING

Sammanfattning	1
Summary	2
Inledning.....	3
Material och metoder.....	3
Litteraturöversikt	3
P-glykoprotein	3
MDR1-mutationen	4
Diagnostik	5
Makrocycliska laktoner	5
Behandling med makrocycliska laktoner	6
Diskussion	8
Litteraturförteckning	10

SAMMANFATTNING

P-glykoprotein (P-gp) är en effluxtransportör som ursprungligen uppmärksammades för sin kapacitet att skydda tumörceller från flertalet läkemedel. Det har sedan visat sig att P-gp även finns i andra vävnader, som tarm, njurtubuli, lever samt i hjärnans kapillära endotelceller. P-gp är en viktig komponent i blod-hjärnbarriären där den hindrar passage av icke-essentiella substanser till hjärnan. Genen som kodar för P-gp kallas *MDR1*. Mutationen som flertalet hundraser har är en deletion i det fjärde kodande exonet i denna gen. Mutationen ger upphov till ett icke-funktionellt P-gp, vilket leder till att uttransporten av intracellulära ämnen inte längre kan ske som normalt. Detta ger ett ökat upptag av läkemedel över tarmslemhinnan och minskad eliminering via njurar och lever. Införseln till hjärnan ökar, vilket kan ge neurologisk toxicitet.

Denna litteraturstudie inriktar sig på att besvara frågeställningen kring vad mutationen har för fysiologisk påverkan, vilka hundraser som drabbas, hur mutationen påverkar behandling med makrocycliska laktoner samt vilka parasiter som behandlas med makrocycliska laktoner.

Makrocycliska laktoner används för behandling av flertalet nematoder och ektoparasiter hos hund, bland annat *Toxocara canis*, *Pneumonyssoides caninum*, *Dirofilaria immitis* och *Demodex canis*. Makrocycliska laktoner stimulerar parasiternas inhibitoriska GABA_A-kanaler och glutamatreglerade kloridjonkanaler. Detta ger en ökad permeabilitet för kloridjoner över cellmembranen, vilket leder till hindrad synapsöverföring och paralyser av parasiten. Preparaten är säkra för värdjuret bland annat eftersom däggdjur saknar glutamatreglerade kloridkanaler och endast har GABA-känsliga neuron i CNS, som skyddas av blod-hjärnbarriären. Hos hundar med *MDR1*-mutationen kan makrocycliska laktoner obehindrat ta sig in till hjärnan och där utöva samma verkningsmekanism som hos parasiten. Detta leder till ataxi och CNS-depression hos hunden.

Att som veterinär förlita sig till tänkespråket "white feet don't treat" i beslutet gällande behandling med makrocycliska laktoner är inte hållbart, eftersom de drabbade raserna har olika utseende samt att även många blandrashundar bär på mutationen. Att helt utesluta behandling av drabbade raser med vissa preparat är inte heller optimalt eftersom den kanske effektivaste behandlingen mot vissa åkommor då elimineras. Mer rutinmässig *MDR1*-genotypning skulle göra det möjligt att använda sig av individualiserad behandling med P-gp-substrat. På så vis skulle ett mer optimerat behandlingsresultat kunna fås. Det allra bästa vore att få fram ett snabbtest avsett för användning på klinik, så att veterinären direkt på plats kan få reda på om hunden bär på mutationen eller inte.

SUMMARY

P-glycoprotein (P-gp) functions as an efflux pump and transport a diverse range of substances over the cell membrane, which leads to decreasing intracellular concentration. P-gp was originally identified by its ability to exert multidrug resistance in tumor cells. Apart from tumor cells, P-gp is expressed in a variety of normal tissues, such as the intestines, renal tubular cells, liver cells and brain capillary endothelial cells. In the blood-brain barrier P-gp is an important component to limit entry of xenobiotics. P-gp is encoded by the *MDR1* gene. A deletion mutation exists in the fourth encoding exon in the *MDR1* gene of many dog breeds. This mutation results in a non-functional P-gp, leading to defect substrate efflux. A defect P-gp results in enhanced enteral drug absorption as well as reduced urinary and biliary drug elimination. Permeation of xenobiotics to the brain is also increased, which can cause adverse neurological effects.

The aim of this study is to explain the physiological impact of the mutation, which breeds are affected, impact of the mutation on treatment with macrocyclic lactones and examples of parasites that are normally treated with macrocyclic lactones.

Macrocyclic lactones are widely used for the treatment of nematodes and ectoparasites, in dogs particularly against *Toxocara canis*, *Pneumonyssoides caninum*, *Dirofilaria immitis* and *Demodex canis*. Macrocyclic lactones bind to the inhibitory GABA_A-gated chloride channels and glutamate-gated chloride channels of the parasites. This causes increased influx of chloride ions into the neurons leading to impaired synapse transmission and paralysis of the parasite. Glutamate-gated chloride channels are specific to invertebrates and GABA_A receptors are only present in the CNS of vertebrates. These two factors contribute to the safety of macrocyclic lactones in the host. In dogs with the *MDR1* mutation the macrocyclic lactones will enter the brain in high concentrations and exert the same mechanism as in the parasite. The dog will experience ataxia and CNS depression.

The adage “white feet, do not treat” can not be applied in the decision whether to treat a dog with macrocyclic lactones or not. Due to that affected breeds differ in appearance, and that the mutation is also found in crossbreeds. Since it possibly eliminates the best treatment of some disorders, it is not ultimate to completely exclude these substances in the affected breeds. A DNA-based test to detect the *MDR1* mutation will allow a more individualized pharmacological therapy. In this way therapy would be optimized. A quick test intended for clinical use would allow the veterinarian to discover carriers of the mutation straight away.

INLEDNING

Många vallhundsraser, främst collie, har en utbredd förekomst av en deletion-mutation i *MDR1*-genen, även kallad *ABCB1*-genen. *MDR* står för multidrug resistance. Genen kodar för P-glykoprotein (P-gp), ett transmembranprotein som fungerar som en effluxpump vilken bland annat finns i blod-hjärnbarriären hos ryggradsdjur. P-gp har en viktig roll i skyddet mot flertalet läkemedel genom att förhindra passage in till hjärnan av för höga koncentrationer av substanserna. Mutationen i *MDR1* leder till uttryck av ett icke-funktionellt P-gp (Geyer & Janko, 2012). Drabbade hundar har förhöjd känslighet mot flertalet läkemedel, till exempel makrocycliska laktoner. Detta gör att individer med mutationen utvecklar neurologisk toxikos vid lägre doser än andra hundar (Mealey, 2008). Genom granskning av de olika rasernas historia har man kommit fram till att alla hundar med mutationen är ättlingar till en enda hund som levde i Storbritannien strax innan den genetiska isoleringen av raser startade på 1870-talet (Neff *et al.*, 2004).

Denna litteraturöversikt riktar in sig på att besvara frågeställningen kring vad mutationen har för fysiologisk påverkan, vilka hundraser som drabbas, hur mutationen påverkar behandling med makrocycliska laktoner samt vilka parasiter som behandlas med makrocycliska laktoner. Dessa frågor är av stor relevans framförallt för veterinärer som står inför beslutet att behandla en hund inom de berörda raserna. Det är viktigt att i denna situation beakta mutationen vid val av substrat och dosering, för att undvika den toxiska reaktion som i värsta fall kan leda till döden för hunden. På grund av den höga frekvensen av minst en muterad allel hos flera hundraser är det viktigt att förstå vilken roll P-gp har i distribuering och eliminering av läkemedel, när de drabbade raserna ska behandlas med ett P-gp-substrat. En större förståelse för rasskillnader och individuella, genetiska skillnader i P-gps förmåga att transportera läkemedel är viktigt för att kunna utveckla bättre behandlingsstrategier för dessa hundar.

MATERIAL OCH METODER

Vid litteratursökningen användes först sökorden (P-gp mutation OR *MDR1* mutation) AND (collie OR dog*). Sedan användes sökorden (ivermectin OR macrocyclic lactones) AND (toxic* OR sensitive). Sökningarna gjordes i databaserna PubMed, Scopus och Web of Science. Referenser från vetenskapliga artiklars referenslistor har också använts.

LITTERATURÖVERSIKT

P-glykoprotein

P-glykoprotein (P-gp) identifierades först för sin kapacitet att skydda tumörceller mot flertalet läkemedel (Schinkel, 1999). P-gp är ett stort adenosintrifosfat (ATP)-bindande transmembranprotein med tolv domäner som bildar en kanal genom vilken substanser förs ut ur cellerna. Därmed minskar koncentrationen av substansen intracellulärt (Juranka *et al.*, 1989). När ATP binder till den intracellulära ATP-bindande domänen sker en konformationsförändring i transmembrandomänerna av P-gp (Martinez *et al.*, 2008) vilket ger upphov till energin som krävs för den aktiva uttransporten av substansen. Detta kan ske mot en stor koncentrationsgradient (Schinkel, 1999).

P-gp uttrycks i flera olika vävnader, som tarm, njurtubuli, lever samt i de kapillära endotelcellerna i hjärnan (Mealey, 2008). Det finns även i blod-testisbarriären och placenta (Mealey, 2013). Lokalisation av P-gp i tarm, njurar och lever gör att substrat kan transporteras ut till respektive tarmlumen, urin och galla. På så sätt eliminerar P-gp substrat från kroppen (Schinkel, 1999). Hjärnans kapillära endotelceller formar den så kallade blod-hjärnbarriären, vilken alla substrat måste passera för att ta sig från blodcirkulationen till hjärnan. Passage sker med hjälp av endocytos eller membrantransportörer beroende på vilken molekyl som ska passera. De flesta av dessa transporterar molekylerna från blodcirkulationen till hjärnan, men det finns även de som transporterar dem från endotelcellerna ut till blodcirkulationen. Det är dessa effluxtransportörer, till exempel P-gp, som hindrar icke-essentiella substanser från att ta sig in till hjärnan, vilket till exempel motverkar biverkningar från läkemedel som ska verka perifert (Tamai & Tsuji, 2000).

MDR1-mutationen

På 1980-talet upptäcktes genen som kodar för P-glykoprotein. Den namngavs *MDR1* (multidrug resistance)-genen, men kallas numera även för *ABCB1*-genen (Mealey, 2004). Namnet *MDR1* uppkom på grund av att den överuttrycks i tumörceller som är resistenta mot flertalet läkemedel (Ueda *et al.*, 1987). Genen finns hos alla däggdjur som analyserats, och är lite speciell hos gnagare där den är dubblerad. Hos hund finns genen på kromosom 14 och är organiserad i 27 exoner (Geyer & Janko, 2012).

Mutationen som flertalet hundraser har är en deletion i det fjärde kodande exonet i denna gen. Deletionen innefattar fyra baspar och detta ger en frame-shift på aminosyraposition 75. På grund av förlust av fyra baspar kommer det stoppkodon som finns på aminosyraposition 91 att komma för tidigt. Dessa två faktorer ger tillsammans upphov till ett förkortat protein som inte är funktionellt (Roulet *et al.*, 2003). Mutation i *MDR1*-genen leder därmed till att P-gp inte längre kan transportera läkemedel som normalt. Detta ger i sin tur ökad oral biotillgänglighet på grund av ett ökat upptag över tarmslemhinnan samt även på grund av en minskad eliminering av läkemedlet genom njurar och lever. Dessutom ökar införseln av läkemedel till hjärnan och det är detta som kan ge neurologisk toxicitet (Geyer & Janko, 2012). Både hundar med dubbel uppsättning av mutationen, *MDR1*(-/-), och de som bara har en muterad allel, *MDR1*(+/-) påverkas kraftigare av P-gp substrat än hundar med normal genotyp, *MDR1*(+/+). Skillnaden är att *MDR1*(-/-)-hundar får en kraftigt ökad distribution av P-gp-substrat till hjärnan på grund av en total avsaknad av funktionellt P-gp, medan *MDR1*(+/-)-hundar får en måttligare ökning i distributionen eftersom de endast har en reduktion i P-gp-funktionen (Mealey *et al.*, 2003; Mealey, 2013). Baserat på studier på möss förmodas det att hundar med mutationen i båda allelerna får en 100 gånger högre koncentration av ivermektin i hjärnan, jämfört med hundar utan mutationen (Mealey, 2013).

MDR1-mutationen förekommer i högst frekvens hos collie där cirka 75% av hundarna i USA, Europa, Japan och Australien bär den på minst en av allelerna (Mealey, 2013). Den finns även hos flera andra hundraser som australian shepherd (17-46%), shetland sheepdog (7-35%), långhårig whippet (42%), silken windhound (18%), McNab (17%), wäller (17-19%) och vit herdehund (14%). Raser som old english sheepdog, schäfer, english shepherd, border collie och blandrashundar är också drabbade men i lägre frekvens (Geyer & Janko, 2012). Förutom

vallhundsraser så är alltså även två vindhundsraser drabbade, dessa tycks ha erhållit sin mutation i ett senare skede än vallhundarna. Baserat på rashistoria antas det att alla hundar som bär på mutationen är ättlingar till en hund som levde i Storbritannien strax före det att uppdelningen av arbetande fårhundar till olika raser skedde på 1870-talet (Neff *et al.*, 2004). Det finns en tankeregeln bland veterinärer som lyder ”white feet, don’t treat” gällande ivermektin (Mealey, 2004). Detta är dock inte hållbart att agera utefter, med tanke på att långt ifrån alla av ovan nämnda raser har vita tassar.

För att se vilken påverkan P-gp-mutationen har på normala fysiologiska funktioner har studier gjorts på möss. Det visade sig att möss som bär på mutationen var friska, fertila och inga fysiologiska eller anatomiska förändringar sågs (Schinkel, 1999).

Diagnostik

Genotypning av *MDR1* kan användas för att undvika toxiska reaktioner hos hundar när man överväger att använda läkemedel som är substrat för P-gp (Mealey, 2008). Genotypning görs med PCR, den aktuella regionen på exon 4 i *MDR1*-genen amplifieras. Mutationen verifieras genom analys av PCR-produkten med gelelektrofores (Geyer & Janko, 2012). Det finns för närvarande inget svenskt laboratorium som utför tester för mutationen. Washington State University har patent på metoden (Mealey, 2008), men flera laboratorier i Europa har fått licensierat att utföra testet. Provet tas hemma av djurägaren med bifogade borstar som skrapas på insidan av kindslemhinnan för att få loss celler, och provet skickas sedan till det utvalda laboratoriet (Svenska silken windhoundklubben, 2011).

Vilka rekommendationer som finns om man ska testa sin hund eller inte varierar väldigt mycket mellan de olika rasklubbarna i Sverige. Svenska colliklubben rekommenderar inte att testa avelsdjur eftersom de anser att det finns viktigare faktorer att ta hänsyn till inom avelsarbetet (Svenska colliklubben, 2012). Däremot testas alla silken windhounds, förutom hundar med två konstaterat fria föräldradjur (Svenska silken windhoundklubben, 2011). Selektion av avelsdjur baserat på genotypning är en strategi som skulle kunna eliminera mutationen helt. Alla rasklubbarna har dock väldigt olika förutsättningar att kunna genomföra detta. Hos långhårig whippet är frekvensen nästan 50% och antalet hundar väldigt litet, vilket gör avelsarbetet svårare. En ras där mutationen skulle kunna elimineras helt på bara några generationer är shetland sheepdog, där antalet hundar är stort och allelfrekvensen relativt låg (Neff *et al.*, 2004).

Makrocykliska laktoner

När de makrocykliska laktonerna, främst ivermektin, introducerades på 1980-talet gav det en revolutionerande möjlighet att bekämpa parasiter hos djur (McKellar & Benchaoui, 1996). De har sedan dess varit ett av de mest använda antiparasitära läkemedlen med bredspektrumaktivitet inom veterinärmedicinen. Två familjer finns, avermektiner (abamektin, doramektin, eprinomektin, ivermektin, selamektin) och milbemyciner (moxidektin, milbemycinoxim, nemadektin) (Lanusse *et al.*, 2009). De har alla en grundläggande struktur gemensamt, med den så kallade laktonringen samt att de är stora och hydrofoba (Lespine *et al.*, 2007). De produceras genom fermentering av *Streptomyces*, som är ett bakteriegenus. Makrocykliska laktoner är så kallade endektocider, det vill säga dödar både endo- och

ektoparasiter (Lanusse *et al.*, 2009). De har aktivitet mot ett brett spektrum av nematoder och åtskilliga ektoparasiter. Däremot har de ingen effekt mot cestoder och trematoder. Substraten är lipofila vilket gynnar transkutikulärt upptag hos många gastrointestinala nematoder. Hos blodsugande endo- och ektoparasiter verkar det huvudsakliga upptaget vara oralt. Detta gör att makrocycliska laktoner till exempel har mer effekt på blodsugande löss än bitande löss (McKellar & Benchaoui, 1996).

Makrocycliska laktoners verkningsmekanism är att de ger minskad motorisk aktivitet samt paralyserar av parasiten. Detta sker genom att substraten verkar på inhibitoriska gammaaminosmörtsyra (GABA)-kanaler och/eller glutamatreglerade kloridjonkanaler, det vill säga ligandstyrda kloridjonkanaler. Det krävs dock betydligt högre koncentrationer av makrocycliska laktoner för att få de GABA-medierade effekterna, och därför förmodas det nu att den huvudsakliga verkningsmekanismen hos parasiter är substratbindning till glutamatreglerade kloridjonkanaler. Detta ger en långsam, irreversibel ökad permeabilitet för kloridjoner över cellmembranen. Eftersom dessa kloridjonkanaler är inhibitoriska, leder det här till hindrad synapsöverföring, vilket i sin tur ger paralyser av somatiska muskler, och parasiten dör (Lanusse *et al.*, 2009). De har också visats ge ett minskat antal ägg i uterus och minskad reproduktionspotential hos flera parasitarter (McKellar & Benchaoui, 1996). Anledningen till att makrocycliska laktoner är dödliga för parasiter men säkra för värdjuret, är främst att glutamatreglerade kloridjonkanaler endast finns hos invertebrater (Lanusse *et al.*, 2009). En annan bidragande orsak är att hos däggdjur finns GABA-känsliga neuron bara i CNS, och de är därmed skyddade av blod-hjärnbarriärens membrantransportörer med effluxpotential. Hos invertebrater är dessa neuron utspridda i nervsystemet längs hela kroppen (Roulet *et al.*, 2003).

Hos hundar med mutationen kommer makrocycliska laktoner kunna passera in till hjärnan obehindrat på grund av icke-funktionella P-gp. De ackumuleras i hjärnan och binder till GABA_A-receptorer vilket gör att kloridjonkanaler öppnas. Kloridjoner flödar in och gör insidan av kanalerna negativt laddade, vilket ger en inhibitorisk postsynaptisk potential. Som ett resultat fås ataxi och CNS-depression hos den drabbade hunden (Merola & Eubig, 2012).

Nedsatt funktion i P-gp leder alltså till både ökad absorption och distribution, samt minskad elimination av flertalet läkemedel hos drabbade individer. Förutom just makrocycliska laktoner har det observerats en ökad känslighet mot bland annat anticancersubstanser, steroidhormoner, opioider, antimikrobiella medel och hjärtfarmaka (Mealey, 2004). Ett relevant exempel att ta upp är framförallt att flera fall av toxiska reaktioner mot loperamid kunnat kopplas till *MDR1*-mutationen. Loperamid är en opioid som används mot diarré. P-gp utesluter normalt substansen från hjärnan, men hos hundar med *MDR1*(-/-) ger substansen CNS-depression redan vid terapeutisk dosering (Mealey, 2013).

Behandling med makrocycliska laktoner

Hundar utan mutationen kan ges så höga doser ivermektin som 2500 µg/kg kroppsvikt utan att utveckla toxikos (Mealey, 2008). De som har homozygot uppsättning av den muterade allelen kan däremot få neurologiska symptom redan efter en oral bolusdos på 100 µg/kg kroppsvikt (Mealey, 2004). De med heterozygot uppsättning kan utveckla neurotoxisk reaktion om de får

oral doser som är högre än 120 µg/kg, och oftast krävs det flera dagars upprepningar för att framkalla reaktionen (Mealey, 2008). Topikal administrering av ivermektin har visats kunna ges i något högre doser (Geyer & Janko, 2012). Symptomen vid neurologisk toxicitet är främst ataxi, håglöshet, kramper, skakningar, mydriasis, blindhet, samt i värsta fall koma och död. Makrocycliska laktoner har lång halveringstid vilket leder till att symptomen har lång duration (Merola & Eubig, 2012). Det är dock inte bara behandling av de *MDRI*-muterade hundarna i sig som är en fara. Eftersom makrocycliska laktoner huvudsakligen elimineras fekal ur kroppen finns det risk för neurologisk toxicitet hos hundar som äter gödsel från betesmarker där djur går som behandlats med dessa preparat. Betesdjuren får stora doser vid behandling vilket leder till att gödseln ofta innehåller höga koncentrationer av aktiv substans (Mealey, 2008). Det finns ingen antidot vid toxikos orsakat av makrocycliska laktoner, det viktigaste är att ge understödande vård för att hunden ska kunna överleva (Merola & Eubig, 2012).

Många gastrointestinala nematoder hos hund behandlas med makrocycliska laktoner, bland annat *Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis* och *Toxascaris leonina*. Dessutom används de mot nematoder i urinvägarna, till exempel *Capillaria spp.*, och vävnadsparasiter som *Dipetalonema reconditum*, *Dirofilaria repens*, *Thelazia callipaeda*, och *Spirocerca lupi*. Det är vanligt att använda topikala lösningar av selamektin, ivermektin, moxidektin eller milbemycinoxim för behandling och kontroll av loppor, vissa fästingar, öronskabb, skabbkvalster och pälskvalster (Nolan & Lok, 2012). Flertalet av dessa parasiter är inte etablerade i Sverige, men på grund av ett ökat resande och mer införsel av hundar från länder med större utbredning av parasiter har man börjat se ett ökande antal fall av arter som tidigare inte påträffats i Sverige (Läkemedelsverket, 2014). Det är väldigt vanligt med förebyggande behandling med ivermektin mot hjärtsmasken *Dirofilaria immitis* hos hund en gång i månaden i de länder där den är utbredd. Dosen är endast 6 µg/kg kroppsvikt och ger därför inte neurologiska reaktioner ens hos hundar med två muterade alleler (Mealey, 2013). Det är dock ett stort problem att många djurägare inte använder sig av de preparat som är specifikt framtagna för hjärtsmaskprevention, utan istället ger preparat som används mot skabb eller rentutav ivermektin som är avsett för behandling av boskap. Dessa preparat är billigare, men eftersom de innehåller mycket högre koncentrationer av substansen ger de ofta upphov till toxiska reaktioner hos hundar med *MDRI*-mutationen redan vid små volymer (Mealey, 2008).

Hundens spolmask *Toxocara canis* är en parasit som förekommer i Sverige, och utgör främst ett problem då vilande larver reaktiveras hos dräktiga tikar och kan överföras till valparna både *in utero* och via mjölken. Tiken kan vid spolmaskproblem behandlas under dräktigheten, och de makrocycliska laktoner moxidektin, selamektin eller milbemycinoxim kan användas. Även noskvalster (*Pneumonyssoides caninum*) är en parasit som förekommer i landet. Den lever i hundens näshåla eller bihålor, och kan vid klinisk misstanke behandlas med milbemycinoxim i dosen 0,5-1,0 mg/kg kroppsvikt, eller selamektin i dosen 6-24 mg/kg kroppsvikt, tre gånger dagligen (Läkemedelsverket, 2014). Enligt Lanusse *et al.*, (2009) är selamektin säkert att använda i terapeutiska koncentrationer även på hundar med *MDRI*-mutationen, och likaså milbemycinoxim. Den troligaste anledningen till den stora skillnaden i tolerans jämfört med ivermektin är att P-gp transporterar läkemedlen annorlunda över blod-hjärnbarriären. I en studie på möss upptäcktes det att hos djur utan mutationen, pumpas

ivermektin vid terapeutisk dosering tillbaka med en högre hastighet över blod-hjärnbarriären än selamektin (Geyer *et al.*, 2009). Anledningen till detta är att ivermektin har en högre affinitet till P-gp, troligen på grund av skillnader i makrocycliska laktoners kemiska struktur. Ivermektin har två sockerenheter medan selamektin bara har en. Den ökade affiniteten ger ökad uttransport med hjälp av P-gp (Lespine *et al.*, 2007), och detta gör att en hund som är homozygot för *MDR1*-mutationen ackumulerar mer ivermektin än selamektin. Selamektin har därmed högre säkerhetsmarginal (Geyer *et al.*, 2009).

Demodex canis är hundens vanligaste hårsäckskvalster (Läkemedelsverket, 2014), och demodikos är en av de totalt sett vanligaste hudsjukdomarna (Geyer & Janko, 2012). Dessa kvalster förekommer i små mängder hos alla djur med hårsäckar, där de tillhör normalfloran. Demodikos uppstår när de förökat sig onormalt mycket och ger då alopeci med inflammation i huden och klåda i varierande grad (Läkemedelsverket, 2014). Generaliserad demodikos är ofta långvarig och svårbehandlad. Topikal administrering av en blandning med moxidektin och imidakloprid finns som godkänt preparat. Det är vanligt att använda sig av andra makrocycliska laktoner (dock inte selamektin) oralt för behandling, ofta ivermektin i den dagliga dosen 300-600 µg/kg trots att de inte är godkända för behandling av demodikos (Geyer & Janko, 2012). Detta är alltså doser som är betydligt högre än den mängd som visats ge toxikos hos *MDR1*-muterade hundar. Vid behandling av en hund av de raser som är drabbade av mutationen bör därför ett behandlingsschema användas där hunden första dagen ges dosen 50 µg/kg och sedan dag för dag ökar dosen sakta tills måldosen uppnåtts efter cirka två veckor. Vid minsta tecken på neurologisk reaktion måste behandlingen omedelbart avbrytas (Läkemedelsverket, 2014).

DISKUSSION

MDR1-mutationen finns hos flertalet fårhundsraser och två vinthundsraser. Collie är den ras som har mutationen i högst frekvens, där 75% av individerna bär på minst en muterad allel (Mealey, 2013). Frekvensen inom raserna tycks vara lika oavsett kontinent. Det är svårt att spekulera kring hur hög frekvens mutationen har inom raserna i Sverige eftersom vi generellt sett inte gör genotypning av våra hundar. Undantag finns, till exempel testas alla silken windhounds med genotypning. Anledningen till detta är att rasklubben vill rikta sin avel för att få så få bärare som möjligt och att slutligen helst kunna avla bort anlaget helt från rasen (Svenska silken windhoundklubben, 2011). Vinthundarna, det vill säga långhårig whippet och silken windhound, tycks ha erhållit sin mutation betydligt senare än vallhundarna. Långhårig whippet är en ras som nästan försvunnit när den återställdes på 1950-talet av en enda uppfödare, som även födde upp shetland sheepdog (Neff *et al.*, 2004). Det spekuleras kring att denna uppfödare blandade in shetland sheepdog i rasen vilket introducerade *MDR1*-mutationen. Silken windhound är en ras som uppkom några årtionden senare, genom korsning av långhårig whippet, borzoi och whippet (Neff *et al.*, 2004). Troligen är det långhårig whippet som bidragit till att även denna ras fick mutationen.

Eftersom frekvensen av mutationen hos flertalet hundraser är mycket hög och biverkningarna vid neurologisk toxikos är allvarliga, till exempel ataxi, kramper, blindhet, koma och död (Merola & Eubig, 2012), är det viktigt att vara medveten om raspredisponeringen. Det är även viktigt att ha god kunskap om P-gps roll i läkemedelsdistribution och elimination vid

behandling av dessa hundraser med möjliga P-gp-substrat. Vad gäller fysiologisk påverkan har studier på möss visat att trots frånvaro av P-gp var djuren friska och fertila i samma utsträckning som icke-muterade möss, så länge de inte behandlades med läkemedel (Schinkel, 1999). Detta tyder på att P-gp inte är nödvändigt för att djurets basala fysiologiska mekanismer ska fungera. Det är dock svårt att dra slutsatser kring hur väl detta stämmer överens på hundar som är drabbade av *MDR1*-mutationen. Både på grund av att det kan finnas artskillnader, och även skillnader vad gäller exponering för olika agens med mera hos djur som lever utanför den strikt kontrollerade laboratoriemiljön.

Flertalet parasiter, bland annat noskvalster, spolmask och hårsäckskvalster, behandlas framgångsrikt med makrocycliska laktoner. Preparaten är även viktiga för prevention av hjärntmask i de länder där den är utbredd. Hundar med mutationen har en kraftigt förhöjd känslighet mot preparaten eftersom utan funktionellt P-gp ackumuleras makrocycliska laktoner kraftigt i hjärnan och ger upphov till neurologisk toxikos. Enligt Mealey (2004) kan reaktionen uppstå redan efter en bolusdos av ivermektin på 100 µg/kg kroppsvikt hos hundar med homozygot uppsättning, och vid doser över 120 µg/kg hos de med heterozygot uppsättning. Detta är speciellt viktigt att tänka på vid behandling av till exempel demodikos, då betydligt högre doser används. Det ska dock noteras att tidigare nämnda siffror avser oral administration. Topikal administrering av ivermektin har visats kunna ges i något högre doser (Geyer & Janko, 2012).

Att som veterinär förlita sig till tänkespråket "white feet don't treat" i beslutet gällande om behandling med ivermektin ska ges eller ej, är inte hållbart (Mealey, 2008). Dels på grund av att flera av de drabbade hundraserna inte har vita tassar, samt eftersom mutationen förekommer hos blandrashundar, som kan se ut lite hur som helst. Det är inte heller helt optimalt att göra som i många länder, inklusive Sverige, där man helt utesluter att behandla drabbade raser med vissa preparat. Man undviker på så vis neurologiska reaktioner, men eliminerar även i många fall den kanske effektivaste behandlingen mot vissa åkommor. En mer utbredd tradition av att rutinmässigt utföra *MDR1*-genotypning skulle göra det möjligt att använda sig av individualiserad behandling med P-gp-substrat, där man väljer preparat utifrån hundens förutsättningar (Mealey, 2004). På så vis skulle man kunna få ett mer optimerat behandlingsresultat. Det allra bästa vore att få fram ett snabbtest avsett för användning på klinik, så att veterinären direkt på plats kan få reda på huruvida hunden är bärare på mutationen eller inte.

LITTERATURFÖRTECKNING

- Geyer, J., Janko, C. (2012). Treatment of *MDR1* mutant Dogs with Macrocyclic Lactones. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13: 969-986.
- Geyer, J., Gavrilova, O., Petzinger, E. (2009). Brain penetration of ivermectin and selamectin in *mdr1a,b* P-glycoprotein- and *bcrp*- deficient knockout mice. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 32: 87-96.
- Juranka, PF., Zastawny, RL. Ling, V. (1989). P-glycoprotein: multidrug-resistance and a superfamily of membrane-associated transport proteins. *FASEB Journal: Official Publication of the Federation of American Societies for Experimental Biology*, 3: 2583-2592.
- Lanusse, CE., Lifshitz, AL., Imperiale, FA. (2009). Macrocyclic lactones: Endectocide compounds. I: Riviere, JE. & Papich, MG. (red), *Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 9th edition. Ames: Wiley-Blackwell, 1119-1144.
- Lespine, A., Martin, S., Dupuy, J., Roulet, A., Pineau, T., Orlowski, S., Alvinerie, M. (2007). Interaction of macrocyclic lactones with P-glycoprotein: Structure-affinity relationship. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 30: 84-94.
- Läkemedelsverket (2014-11-07). *Ekto- och endoparasiter hos hund och katt*.
http://www.lakemedelsverket.se/upload/om-lakemedelsverket/publikationer/information-fran-lakemedelsverket/2014/Information_fran_Lakemedelsverket_supplement_2014_webb.pdf
[2015-02-11]
- Martinez, M., Modric, S., Sharkey, M., Troutman, L., Walker, L., Mealey, KL. (2008). The pharmacogenomics of P-glycoprotein and its role in veterinary medicine. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 31: 285-300.
- McKellar, QA., Benchaoui, HA. (1996). Avermectins and milbemyccins. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 19: 331-351.
- Mealey, KL. (2004). Therapeutic implications of the MDR-1 gene. *Journal of Veterinary Pharmacology and Therapeutics*, 27: 257-264.
- Mealey, KL. (2008). Canine *ABCB1* and macrocyclic lactones: Heartworm prevention and pharmacogenetics. *Veterinary Parasitology*, 158: 215-222.
- Mealey, KL. (2013). Adverse drug reactions in veterinary patients associated with drug transporters. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 43: 1067-1078.
- Mealey, KL., Northrup, NC., Bentjen SA. (2003). Increased toxicity of P-glycoprotein-substrate chemotherapeutic agents in a dog with the *MDR1* deletion mutation associated with ivermectin sensitivity. *Journal of the American Veterinary Medical Association*, 223: 1453-1455.
- Merola, VM., Eubig, PA. (2012). Toxicology of avermectins and milbemyccins (macrocyclic lactones) and the role of P-glycoprotein in dogs and cats. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 42: 313-333.
- Neff, MW., Robertson, KR., Wong, AK., Safra, N., Broman, KW., Slatkin, M., Mealey, KL., Pedersen, NC. (2004). Breed distribution and history of canine *mdr1-1Delta*, a pharmacogenetic mutation that marks the emergence of breeds from the collie lineage. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101: 11725-11730.
- Nolan, TJ., Lok, JB. (2012). Macrocyclic lactones in the treatment and control of parasitism in small companion animals. *Current Pharmaceutical Biotechnology*, 13: 1078-1094.

- Roulet, A., Puel, O., Gesta, S., Lepage, J.F., Drag, M., Soll, M., Alvinerie, M., Pineau, T. (2003). MDR1-deficient genotype in Collie dogs hypersensitive to the P-glycoprotein substrate ivermectin. *European Journal of Pharmacology*, 460: 85-91.
- Schinkel, AH. (1999). P-Glykoprotein, a gatekeeper in the blood-brain barrier. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 36: 179-194.
- Svenska collielubben (2012-01-02). *MDR1-defekten*.
http://www.svenskacollielubben.se/halsa_mdr.htm [2015-02-18]
- Svenska Silken Windhoundklubben (2011-02-09). *MDR1-multi drug resistance defect*.
http://www.silken.windhound.com/index.php?option=com_content&view=article&id=61&Itemid=105 [2015-02-18]
- Tamai, I., Tsuji, A. (2000). Transporter-mediated permeation of drugs across the blood-brain barrier. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89: 1371-1388.
- Ueda, K., Cardarelli, C., Gottesman, MM., Pastan, I. (1987). Expression of a full-length cDNA for the human 'MDR1' gene confers resistance to colchicine, doxorubicin, and vinblastine. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 84: 3004-3008.